

Katarzyna Nabrdalik, Edyta Cichocka, Janusz Gumprecht

Klinika Chorób Wewnętrznych, Diabetologii i Nefrologii w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny

Metformina a kinaza białkowa aktywowana przez AMP (AMPK) i procesy energetyczne w cukrzycy typu 2

Metformin and AMP-activated protein kinase and energetic processes

STRESZCZENIE

Metformina jest najczęściej stosowanym, kluczowym lekiem przeciwhiperglikemicznym w leczeniu cukrzycy typu 2 o szerokich właściwościach pleiotropowych. Przez wiele lat nie znano dokładnego mechanizmu jej działania, jednak wyniki ostatnio przeprowadzonych badań dowodzą, że w działaniu leku pośredniczy kinaza białkowa aktywowana przez AMP (AMPK). Enzym ten bierze udział w wielu procesach metabolicznych organizmu, w tym w regulacji metabolizmu glukozy, białek i tłuszczów, oraz jest uważany za jeden z głównych czynników odpowiedzialnych za homeostazę energetyczną ustroju. Efektywność metforminy w redukcji hiperglikemii jest uzależniona od dawki dobowej, która w celu uzyskania optymalnego efektu powinna zwykle wynosić minimum 2000 mg, jednak w każdym przypadku jej dobór powinien być indywidualizowany. (Diabet. Klin. 2013; 2, 4: 125–130)

Słowa kluczowe: AMPK, procesy energetyczne, metformina

Adres do korespondencji:

dr n. med. Katarzyna Nabrdalik

Klinika Chorób Wewnętrznych, Diabetologii i Nefrologii w Zabrze,
Śląski Uniwersytet Medyczny

ul. 3 Maja 13–15, 41–800 Zabrze

e-mail: knabrdalik@yahoo.com

Diabetologia Kliniczna 2013, tom 2, 4, 125–130

Copyright © 2013 Via Medica

Nadesłano: 10.03.2013

Przyjęto do druku: 6.06.2013

ABSTRACT

Metformin is one of the antihyperglycemic agents of wide pleiotropic properties most often used to treat type 2 diabetes mellitus. For many years the exact mechanism of metformin action was not explained but recent studies indicated that the drug's effect is being mediated through AMP-activated protein kinase (AMPK). This enzyme is taking part in many metabolic processes including glucose, protein and lipid metabolism and is thought to be master of energy homeostasis. Metformin effectiveness in hyperglycaemia reduction depends on its daily dosage which should be at least 2000 mg in order to obtain optimal effect but it must be remembered that in each case it ought to be individualized. (Diabet. Klin. 2013; 2, 4: 125–130)

Key words: AMPK, energetic processes, metformin

Wstęp

W ostatnich latach metformina została uznana za lek referencyjny w farmakoterapii cukrzycy typu 2, na co istotny wpływ miało ogłoszenie w 1998 roku wyników badania *United Kingdom Prospective Diabetes Study* (UKPDS) [1, 2]. Główną informacją wynikającą z powyższej obserwacji był ochronny wpływ metforminy w odniesieniu do ryzyka powikłań sercowo-naczyniowych cukrzycy, w znacznym stopniu niezależny od jej właściwości przeciwhiperglikemicznych. W badaniu tym u otyłych pacjentów chorujących na cukrzycę typu 2 leczonych metforminą w okresie 10-letniej obserwacji zauważono istotne zmniejszenie powikłań makroangiopatycznych, przekładające się na istotną redukcję

śmiertelności. Redukcja śmiertelności całkowitej, zgonu związanego z cukrzycą, dowolnego punktu końcowego związanego z cukrzycą i zawału serca były istotnie wyższe w grupie osób leczonych metforminą w porównaniu z pacjentami leczonymi pochodnymi sulfonilomocznika lub insuliną, mimo braku różnic w wyrównaniu glikemii w zależności od stosowanego leku.

Uważa się, że metformina zmniejsza wchłanianie glukozy w obrębie jelita, wpływa korzystnie na metabolizm komórek wątrobowych, hamując wątrobową produkcję glukozy, oraz poprawia wrażliwość tkanek obwodowych na działanie insuliny. Wywiera również pozytywny wpływ na metabolizm tłuszczów, a ponadto wykazuje właściwości kardioprotekcyjne [1]. Ostatnio wykazano, że jednym z molekularnych celów działania metforminy jest kinaza białkowa aktywowana przez AMP (AMPK, *AMP-activated protein kinase*), która działa jako integrator sygnałów regulacyjnych, monitorujących systemowy i komórkowy stan energetyczny ustroju.

Patofizjologia cukrzycy typu 2

Insulina jest wydzielana przez komórki β wysp trzustki w odpowiedzi na poposiłkowy wzrost stężenia we krwi glukozy i aminokwasów. Po przyłączeniu się do receptora i aktywacji systemu przekazywania sygnału, insulina reguluje homeostazę glukozy poprzez wpływ na komórki efektorowe (miocyty, adipocyty, hepatocyty) i zwiększenie transportu glukozy do wnętrza komórek.

Większość glukozy jest rozmieszczana w mięśniach szkieletowych, a stymulowany przez insulinę transport zachodzi dzięki przemieszczeniu transporterów glukozy GLUT-4 z przestrzeni wewnątrzkomórkowej do błony komórkowej graniczącej z osoczem [3, 4]. Ponadto, poza wpływem na metabolizm węglowodanów, insulina jest istotnym regulatorem metabolizmu lipidów. W wątrobie stymuluje enzymy lipogenezy, takie jak syntetaza kwasów tłuszczowych i karboksylaza acetylo-CoA (ACC), oraz hamuje wydzielanie lipoprotein o bardzo małej gęstości (VLDL, *very low-density lipoprotein*), a w tkance tłuszczowej jest hormonem antylipolitycznym, działającym poprzez hamowanie insulinowrażliwej lipazy lipoproteinowej [5]. Jednym z kluczowych defektów metabolicznych cukrzycy typu 2, obok upośledzonej funkcji wydzielniczej komórki β , jest oporność na działanie insuliny w mięśniach szkieletowych, wątrobie i adipocytach, która prowadzi do wątrobowej nadprodukcji glukozy i jest główną przyczyną zmniejszonego wychwytu glukozy przez tkanki obwodowe. Zarówno cukrzyca typu 2, jak i insulinooporność *per se* wiążą się ze zwiększonym ryzykiem chorobowości i śmiertelności z przyczyn sercowo-naczyniowych [6].

Na poziomie komórkowym insulinooporność charakteryzuje się zmniejszeniem stymulowanej przez insulinę fosforylacji tyrozyny receptora dla insuliny i substratu 1 receptora insuliny (IRS-1), co prowadzi do zmniejszenia aktywności kinazy 3 fosfatydyloinozytolu (PI-3) związanej z IRS-1, niezbędnej do przemieszczenia GLUT-4 w kierunku błony komórkowej graniczącej z osoczem [7]. Wyniki badań z ostatnich lat wskazują, że nadmierne wewnątrzkomórkowe nagromadzenie toksycznych metabolitów lipidów, w tym tłuszczowego acetylo-CoA, ceramidów i diacylogliceroli, aktywuje kinazy, które fosforylują IRS-1, doprowadzając do zmniejszenia aktywności kinazy PI-3 [8].

Wpływ metforminy na AMPK

Od czasu, kiedy francuski lekarz Jean Sterne zastosował po raz pierwszy metforminę u chorych na cukrzycę minęło już ponad 50 lat, jednak mimo upływu tak długiego czasu, szerokiego zastosowania leku i dobrych wyników terapeutycznych, molekularny mechanizm działania metforminy nie został w pełni poznany [9]. Informacji na ten temat dostarczyły dopiero wyniki badań opublikowanych na początku XXI wieku. W badaniu przeprowadzonym przez Zhou i wsp. [10] wykazano, że metformina wywiera swoje działanie poprzez aktywację w hepatocytach AMPK. Nieco później Shaw i wsp. [11] udowodnili w badaniu na modelu zwierzęcym, że działanie metforminy może być pośredniczone przez hamowanie glukoneogenezy w wyniku aktywacji wątrobowej osi LKB1/AMPK, zwracając uwagę na domniemaną rolę tych kinaz w terapeutycznych właściwościach leku. Ponadto w kolejnym badaniu wykazano, że lek ten doprowadza do łagodnego i specyficznego hamowania kompleksu I mitochondrialnego łańcucha oddechowego, a aktywacja AMPK przez metforminę jest zjawiskiem wtórnym do jej wpływu na mitochondria, które są pierwotnym celem aktywności leku [12]. Aktywowana AMPK uczestniczy w regulacji wewnątrzkomórkowych przemian glukozy, zwiększa aktywność GLUT-4, nasila oksydację kwasów tłuszczowych i hamuje ich syntezę *de novo* oraz syntezę triglicerydów i białek, a także przyspiesza glikolizę [13]. Odgrywa ponadto istotną rolę w regulacji glikemii podczas wysiłku fizycznego, w trakcie którego dochodzi do aktywacji AMPK nie tylko w mięśniach szkieletowych, lecz także w wątrobie i tkance tłuszczowej, a wyniki badań wskazują, że to właśnie AMPK pośredniczy w pleiotropowym działaniu metforminy [10, 14].

AMPK

Z historycznego punktu widzenia szlak metaboliczny AMPK był pierwotnie uważany za sensor i regulator równowagi energetycznej ustroju na poziomie

komórkowym, natomiast współcześnie wiadomo, że jest również zaangażowany w równowagę energetyczną na poziomie całego organizmu [15]. Większość procesów komórkowych wymaga energii i odbywa się dzięki hydrolizie ATP do ADP i fosforanu (lub rzadziej do AMP i pirofosforanu). Kinaza białkowa aktywowana przez AMP jest filogenetycznie konserwatywną kinazą białkową serynowo-treoninową, uznawaną za czujnik systemowych i komórkowych zasobów energetycznych, odgrywającą kluczową rolę w ochronie funkcji komórek w warunkach niedoborów energetycznych i głównym metabolicznym przełącznikiem pośredniczącym w adaptacji komórek do różnych warunków środowiska [16]. Jej aktywność wzrasta w następstwie wystąpienia stresu metabolicznego, który albo ingeruje w tworzenie ATP w procesach katabolicznych (np. niedobór glukozy, niedotlenienie, niedokrwienie), albo przyspiesza zużycie ATP (np. skurcz mięśni), co prowadzi do zwiększenia komórkowego stosunku ADP do ATP i AMP do ATP. Minimalny nawet niedobór ATP powoduje aktywację AMPK. Aktywowana AMPK przełącza komórki ze stanu anabolicznego do katabolicznego, zamykając szlaki zużywające ATP, i tym samym przywraca równowagę energetyczną. W efekcie zahamowane zostają synteza glukozy, tłuszczów, białek oraz wzrost komórek, a pobudzane są wychwyt i oksydacja kwasów tłuszczowych oraz wychwyt glukozy i glikoliza [10, 17]. Poza rolą w regulacji bilansu energetycznego w sposób autonomiczny na poziomie komórkowym, AMPK pozostaje także pod wpływem licznych hormonów i/lub cytokin, które uczestniczą w regulacji bilansu energetycznego na poziomie całego organizmu, włączając w to leptynę, adiponektynę, grelinę, kanabinoidy, a nawet hormony tarczycy [15, 18, 19]. Ponadto przewlekła aktywacja AMPK naśladuje efekt intensywnego wysiłku fizycznego poprzez indukcję ekspresji heksokinazy mięśniowej oraz transporterów glukozy (GLUT-4) [20].

AMPK a aktywność fizyczna

Aktywność fizyczna u osób chorujących na cukrzycę wywiera niezależny korzystny wpływ na działanie insuliny, kontrolę glikemii i zaburzeń metabolicznych związanych z chorobą [21]. Regularne ćwiczenia fizyczne prowadzą do licznych korzystnych zmian fizjologicznych, które w szczególności dotyczą poprawy wrażliwości na insulinę mięśni szkieletowych i wątroby oraz wychwytu i utylizacji glukozy przez mięśnie szkieletowe, a także poprawy profilu lipidowego, redukcji masy ciała, obniżenia ciśnienia tętniczego, korzystnego wpływu na krzepliwość krwi i zmniejszenia ogólnego ryzyka sercowo-naczyniowego [22]. Występowanie tych zmian jest częściowo tłumaczone aktywacją AMPK w czasie wysiłku fizycznego, która zachodzi nie tylko

w mięśniach szkieletowych, lecz także w wątrobie i tkance tłuszczowej, a poprawa kontroli glikemii obserwowana u osób chorujących na cukrzycę typu 2 wiąże się ze zwiększonym transportem glukozy w mięśniach szkieletowych i redukcją wątrobowej produkcji glukozy. Co interesujące, efekty te nie są zależne od insuliny, co tłumaczy, dlaczego AMPK może być w pełni aktywowana u osób chorujących na cukrzycę typu 2, tak jak u osób zdrowych, pomimo obecności uogólnionej insulinooporności [23]. Wysiłek fizyczny doprowadza do redukcji stężenia insuliny w surowicy krwi, która nie jest związana ze zwiększeniem liczby receptorów dla insuliny lub fosforylacją IRS-1 albo wzmożoną aktywnością kinazy PI-3 [24]. W czasie skurczu mięśni dochodzi do zużycia wysokoenergetycznych fosforanów zawartych w fosfokreatynie i ATP, a wyczerpane zapasy ATP są uzupełniane z oksydacji kwasów tłuszczowych i glukozy. Zwiększenie stosunku AMP/ATP i kreatyny do fosfokreatyny w kurczących się mięśniach prowadzi do znacznej aktywacji AMPK, która z kolei powoduje zwiększenie transportu glukozy w mięśniach szkieletowych [25]. Skurcz mięśni szkieletowych jest uważany za prototypiczny aktywator AMPK, a AMPK wydaje się kluczowym mechanizmem adaptacji metabolicznej do wysiłku fizycznego [26].

AMPK a homeostaza glukozy

Homeostaza glukozy jest warunkowana utrzymaniem równowagi pomiędzy produkcją glukozy i jej wychwytem przez tkanki obwodowe. Podwyższona wątrobowa produkcja glukozy jest główną przyczyną hiperglikemii na czczo u osób chorujących na cukrzycę typu 2 [27]. Znaczenie AMPK w kontroli produkcji glukozy przez wątrobę podkreślają wyniki badań przeprowadzonych *in vitro* i *in vivo*, które dowodzą, że farmakologiczna aktywacja AMPK prowadzi do zahamowania wątrobowej produkcji glukozy. Początkowo wykazano w badaniach na zwierzętach, że dożylne podanie aktywatora AMPK (AICAR, 5-Aminoimidazole-4-carboxamide-1-β-D-ribose) szczurom zdrowym oraz obciążonym insulinoopornością prowadziło do zahamowania wątrobowej produkcji glukozy. Podobnie, aktywacja AMPK przez metforminę w hodowli szczurzych komórek wątrobowych pośredniczyła w hamującym wpływie leku na wątrobową produkcję glukozy [10, 28].

AMPK a metabolizm lipidów

W czasie wysiłku fizycznego dochodzi do zwiększenia transportu i metabolizmu kwasów tłuszczowych w mięśniach szkieletowych w celu utrzymania homeostazy energetycznej. Kinaza białkowa aktywowana przez AMP odgrywa szczególną rolę w nasileniu oksy-

dacji kwasów tłuszczowych w mięśniach szkieletowych poprzez fosforylację ACC [29]. Fosforylacja ACC przez AMPK redukuje jej aktywność i prowadzi do zmniejszenia produkcji malonylo-CoA, będącego inhibitorem palmitylotransferazy karnitynowej (CPT-1). Redukcja malonylo-CoA zmniejsza hamowanie CPT-1 i promuje pośredniczony przez CPT-1 transport kwasów tłuszczowych do mitochondrium w celu ich oksydacji. Pośredniczone przez AMPK zmniejszenie zawartości wewnątrzkomórkowej malonylo-CoA i kwasów tłuszczowych prowadzi z kolei do poprawy wrażliwości na insulinę, ponieważ zarówno malonylo-CoA, jak i nadmiar metabolitów lipidowych, w tym kwasów tłuszczowych, acylo-CoA, ceramidów i diacylogliceroli, powodują oporność na insulinę w mięśniach szkieletowych [30]. Również w wątrobie AMPK reguluje kilka kluczowych białek zaangażowanych w metabolizm lipidów. Fosforyluje i inaktywuje zarówno ACC, jak i reduktazę hydroksymetyloglutarylo-CoA (HMG-CoA), ograniczając w ten sposób ilość enzymu potrzebną odpowiednio do syntezy kwasów tłuszczowych i cholesterolu. Podobnie jak to ma miejsce w mięśniach szkieletowych, również w wątrobie inaktywacja ACC przez AMPK prowadzi do zmniejszenia produkcji malonylo-CoA, podwyższenia aktywności CPT-1 i zwiększenia oksydacji kwasów tłuszczowych. Uogólniając, aktywacja AMPK w wątrobie powoduje stymulację oksydacji kwasów tłuszczowych oraz zablokowanie syntezy cholesterolu i triglicerydów. Ponadto AMPK hamuje ekspresję mRNA SREBP-1, białka będącego czynnikiem transkrypcyjnym stymulowanym przez insulinę, zaangażowanym w patogenezę insulinooporności, dyslipidemii i cukrzycy typu 2 [10, 31].

Wpływ metforminy na zmniejszenie produkcji cyklicznego AMP

W styczniu 2013 roku w czasopiśmie „Nature” została opublikowana praca autorstwa Millera i wsp. [32], w której autorzy, opierając się na wynikach badań przeprowadzonych na wątrobach i hepatocytach pozbawionych AMPK lub jego aktywacyjnego enzymu LKB1, podważają dotychczasową wiedzę na temat mechanizmu działania metforminy odnoszącą się do aktywacji AMPK. W artykule tym wysunięto hipotezę, że skoro w okresie powstrzymywania się od przyjmowania pokarmów glikogenoliza i glukoneogeneza są kontrolowane częściowo przez glukagon, którego nieprawidłowa sekrecja jest istotnym zaburzeniem prowadzącym do hiperglikemii w cukrzycy typu 2, to metformina może wywierać swoje działanie przeciwhiperglikemiczne właśnie przez hamowanie szlaków sygnałowych tego hormonu. Przyłączenie glukagonu do swojego receptora na powierzchni hepatocytów prowadzi do aktywacji cyklazy adenylowej, produkcji

cyklicznego AMP (cAMP) i stymulacji kinazy białkowej A (PKA), która fosforyluje białka przyczyniające się do zwiększenia wątrobowej produkcji glukozy. Na modelu mysim hepatocytów zostały ocenione różne czynniki, które wywierają aktywujący wpływ na AMPK poprzez zmniejszenie stanu energetycznego lub naśladujące zmniejszenie stanu energetycznego w celu zahamowania zależnego od glukagonu zwiększenia produkcji cAMP [32]. Wykazano, że metformina zmniejsza wątrobową produkcję glukozy poprzez wpływ na cAMP, co jest zgodne z wynikami wcześniej przeprowadzonych badań [32–36]. W następstwie zwiększenia wewnątrzkomórkowej zawartości AMP metformina niweluje aktywację cAMP przez glukagon, co z kolei prowadzi do zmniejszenia fosforylacji kluczowych substratów odpowiedzialnych za wątrobową produkcję glukozy. Autorzy dowodzą, że metformina doprowadza do wystąpienia w hepatocytach łagodnego stresu energetycznego, którego następstwem jest zwiększenie stężenia AMP do wartości, która może bezpośrednio powodować zahamowanie cyklazy adenylowej i wysuwają hipotezę, że fragment P cyklazy adenylowej może stać się nowym celem w leczeniu insulinooporności i cukrzycy typu 2 [32].

Skuteczność metforminy a stosowana dawka

W większości badań klinicznych z zastosowaniem metforminy dawka leku, ze względów pragmatycznych, była ustalana w trakcie okresu obserwacji, dlatego na podstawie wyników tych badań nie zawsze można wyciągać jednoznaczne wnioski dotyczące związku dawki metforminy z osiągniętym efektem terapeutycznym [37]. Lepszym sposobem uzyskania informacji na temat związku dawki metforminy z jej właściwościami przeciwhiperglikemicznymi jest analiza badań z zastosowaniem metod badawczych, dzięki którym można porównać równolegle grupy badanych osób lub przeanalizować stopniowe dostosowywanie dawki leku wśród grup badanych pacjentów [38–41]. Wyniki tych badań wskazują, że właściwości przeciwhiperglikemiczne metforminy i korzystny wpływ na profil lipidowy są zależne od stosowanej dawki leku i zwiększają się wraz z jej wzrostem [38–40]. Wyniki badania UKPDS potwierdzają jednoznacznie obserwację, że stosowanie metforminy w odpowiedniej dawce (średnia dawka w badaniu — 2000 mg) poprawia wyniki leczenia chorych na cukrzycę typu 2 i wywiera ochronny efekt w odniesieniu do układu sercowo-naczyniowego [1]. Zależność od dawki wykazano ponadto w przypadku protekcji rozrostu nowotworowego [42–44].

Istotnym elementem każdej farmakoterapii jest stosowanie się pacjenta do zaleceń lekarskich dotyczących

określonego dawkowania leku. Powszechnie wiadomo, że im bardziej złożony schemat terapii (stosowanie leku kilka razy dziennie i/lub przyjmowanie wielu leków jednocześnie), tym rzadziej jest on przestrzegany, co może wpływać na zmniejszenie adherencji i w efekcie skuteczności terapii, w tym także — poprzez towarzyszące wahania stężeń leku — szeroko rozumianego działania plejotropowego [45]. Rozwiązaniem tego problemu w odniesieniu do metforminy jest możliwość zastosowania postaci o przedłużonym uwalnianiu w jednej dawce dobowej, która jest uznawana za terapię skuteczną i dobrze tolerowaną [46, 47]. Ponadto można przypuszczać, że forma metforminy o przedłużonym uwalnianiu, pozwalająca na utrzymanie stałego stężenia leku we krwi przez 24 godziny, może w sposób ciągły aktywować AMPK i utrzymywać homeostazę energetyczną ustroju.

Wnioski

Metformina jest obecnie lekiem pierwszego rzutu w terapii jednego z najbardziej powszechnych schorzeń metabolicznych — cukrzycy typu 2, a AMPK jest enzymem odgrywającym istotną rolę w utrzymaniu homeostazy energetycznej ustroju. Wykazanie, że AMPK jest enzymem pośredniczącym w działaniu metforminy stało się ważnym krokiem w kierunku zrozumienia mechanizmów działania tego leku, stwarzając perspektywę do poszerzenia badań nad innymi lekami, które w swoim mechanizmie działania będą uwzględniały wpływ na AMPK, a także, jak dowodzą wyniki najnowszych badań, na cAMP. Efektywność metforminy w redukcji hiperglikemii jest uzależniona od dawki dobowej, która w celu uzyskania optymalnego efektu powinna zwykle wynosić minimum 2000 mg, jednak w każdym przypadku jej dobór, podobnie jak sama terapia, powinny być indywidualizowane.

PIŚMIENNICTWO

- Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *Lancet* 1998; 352: 854–865.
- Nathan D.M., Buse J.B., Davidson M.B. i wsp. Medical management of hyperglycaemia in type 2 diabetes mellitus: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetologia* 2009; 52: 17–30.
- DeFronzo R.A., Bonadonna R.C., Ferrannini E. Pathogenesis of NIDDM. A balanced overview. *Diabetes Care* 1992; 15: 318–368.
- Shepherd P.R., Kahn B.B. Glucose transporters and insulin action — implications for insulin resistance and diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 1999; 341: 248–257.
- DeFronzo R.A. Lilly lecture 1987. The triumvirate: beta-cell, muscle, liver. A collusion responsible for NIDDM. *Diabetes* 1988; 37: 667–687.
- Henry R.R. Insulin resistance: from predisposing factor to therapeutic target in type 2 diabetes. *Clin. Ther.* 2003; 25 (supl. B): B47–B63.
- Goodyear L.J., Giorgino F., Sherman L.A. i wsp. Insulin receptor phosphorylation, insulin receptor substrate-1 phosphorylation and phosphatidylinositol 3-kinase activity are decreased in intact skeletal muscle strips from obese subjects. *J. Clin. Invest.* 1995; 95: 2195–2204.
- Boden G., Lebed B., Schatz M., Homko C., Lemieux S. Effects of acute changes of plasma free fatty acids on intramyocellular fat content and insulin resistance in healthy subjects. *Diabetes* 2001; 50: 1612–1617.
- Natali A., Ferrannini E. Effects of metformin and thiazolidinediones on suppression of hepatic glucose production and stimulation of glucose uptake in type 2 diabetes: a systematic review. *Diabetologia* 2006; 49: 434–441.
- Zhou G., Myers R., Li Y. i wsp. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J. Clin. Invest.* 2001; 108: 1167–1174.
- Shaw R.J., Lamia K.A., Vasquez D. i wsp. The kinase LKB1 mediates glucose homeostasis in liver and therapeutic effects of metformin. *Science* 2005; 310: 1642–1646.
- Stephenne X., Foretz M., Taleux N. i wsp. Metformin activates AMP-activated protein kinase in primary human hepatocytes by decreasing cellular energy status. *Diabetologia* 2011; 54: 3101–3110.
- Owen M.R., Doran E., Halestrap A.P. Evidence that metformin exerts its anti-diabetic effects through inhibition of complex 1 of the mitochondrial respiratory chain. *Biochem. J.* 2000; 348 (cz. 3): 607–614.
- Ruderman N.B., Park H., Kaushik V.K. i wsp. AMPK as a metabolic switch in rat muscle, liver and adipose tissue after exercise. *Acta Physiol. Scand.* 2003; 178: 435–442.
- Kahn B.B., Alquier T., Carling D., Hardie D.G. AMP-activated protein kinase: ancient energy gauge provides clues to modern understanding of metabolism. *Cell Metab.* 2005; 1: 15–25.
- Hardie D.G. Minireview: the AMP-activated protein kinase cascade: the key sensor of cellular energy status. *Endocrinology* 2003; 144: 5179–5183.
- Hardie D.G., Hawley S.A. AMP-activated protein kinase: the energy charge hypothesis revisited. *Bioessays* 2001; 23: 1112–1119.
- Kola B., Boscaro M., Rutter G.A., Grossman A.B., Korbonits M. Expanding role of AMPK in endocrinology. *Trends Endocrinol. Metab.* 2006; 17: 205–215.
- Lopez M., Varela L., Vazquez M.J. i wsp. Hypothalamic AMPK and fatty acid metabolism mediate thyroid regulation of energy balance. *Nat. Med.* 2010; 16: 1001–1008.
- Holmes B.F., Kurth-Kraczek E.J., Winder W.W. Chronic activation of 5'-AMP-activated protein kinase increases GLUT-4, hexokinase, and glycogen in muscle. *J. Appl. Physiol.* 1999; 87: 1990–1995.
- Hayes C., Kriska A. Role of physical activity in diabetes management and prevention. *J. Am. Diet. Assoc.* 2008; 108 (supl. 1): 19–23.
- Sigal R.J., Kenny G.P., Wasserman D.H., Castaneda-Sceppa C. Physical activity/exercise and type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27: 2518–2539.
- Musi N., Fujii N., Hirshman M.F. i wsp. AMP-activated protein kinase (AMPK) is activated in muscle of subjects with type 2 diabetes during exercise. *Diabetes* 2001; 50: 921–927.
- Wojtaszewski J.F., Hansen B.F., Kiens B., Richter E.A. Insulin signaling in human skeletal muscle: time course and effect of exercise. *Diabetes* 1997; 46: 1775–1781.
- Winder W.W. Energy-sensing and signaling by AMP-activated protein kinase in skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* 2001; 91: 1017–1028.
- Hayashi T., Hirshman M.F., Kurth E.J., Winder W.W., Goodyear L.J. Evidence for 5' AMP-activated protein kinase mediation of the effect of muscle contraction on glucose transport. *Diabetes* 1998; 47: 1369–1373.

27. Saltiel A.R., Kahn C.R. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature* 2001; 414: 799–806.
28. Bergeron R., Previs S.F., Cline G.W. i wsp. Effect of 5-aminoimidazole-4-carboxamide-1-beta-D-ribofuranoside infusion on in vivo glucose and lipid metabolim in lean and obese Zucker rats. *Diabetes* 2001; 50: 1076–1082.
29. Winder W.W., Hardie D.G. Inactivation of acetyl-CoA carboxylase and activation of AMP-activated protein kinase in muscle during exercise. *Am. J. Physiol.* 1996; 270 (2 cz. 1): E299–E304.
30. Shulman G.I. Cellular mechanisms of insulin resistance. *J. Clin. Invest.* 2000; 106: 171–176.
31. Velasco G., Geelen M.J., Guzman M. Control of hepatic fatty acid oxidation by 5'-AMP-activated protein kinase involves a malonyl-CoA-dependent and a malonyl-CoA-independent mechanism. *Arch. Biochem. Biophys.* 1997; 337: 169–175.
32. Miller R.A., Chu Q., Xie J. i wsp. Biguanides suppress hepatic glucagon signalling by decreasing production of cyclin AMP. *Nature* 2013; 494: 256–260.
33. Gawler D.J., Wilson A., Houslay M.D. Metformin treatment of lean and obese Zucker rats modulates the ability of glucagon and insulin to regulate hepatocyte adenylate cyclase activity. *J. Endocrinol.* 1989; 122: 207–212.
34. Torres T.P., Sasaki N., Donahue E.P. i wsp. Impact of a glycogen phosphorylase inhibitor and metformin on basal and glucagon-stimulated hepatic glucose flux in conscious dogs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2011; 337: 610–620.
35. Yu B., Pugazhenth S., Khandelwal R.L. Effects of metformin on glucose and glucagon regulated gluconeogenesis in cultured normal and diabetic hepatocytes. *Biochem. Pharmacol.* 1994; 48: 949–954.
36. Zhang T., He J., Xu C. i wsp. Mechanisms of metformin inhibiting lipolytic response to isoproterenol in primary rat adipocytes. *J. Mol. Endocrinol.* 2009; 42: 57–66.
37. Johansen K. Efficacy of metformin in the treatment of NIDDM. Meta-analysis. *Diabetes Care* 1999; 22: 33–37.
38. Grant P.J. The effects of high-and medium-dose metformin therapy on cardiovascular risk factors in patients with type II diabetes. *Diabetes Care* 1996; 19: 64–66.
39. Garber A.J., Duncan T.G., Goodman A.M., Mills D.J., Rohlf J.L. Efficacy of metformin in type II diabetes: results of a double-blind, placebo-controlled, dose-response trial. *Am. J. Med.* 1997; 103: 491–497.
40. Hermann L.S., Schersten B., Melander A. Antihyperglycaemic efficacy, response prediction and dose-response relations of treatment with metformin and sulphonylurea, alone and in primary combination. *Diabet. Med.* 1994; 11: 953–960.
41. McIntyre H.D., Ma A., Bird D.M. i wsp. Metformin increases insulin sensitivity and basal glucose clearance in type 2 (non-insulin dependent) diabetes mellitus. *Aust. N. Z. J. Med.* 1991; 21: 714–719.
42. Libby G., Donnelly L.A., Donnan P.T. i wsp. New users of metformin are at low risk of incident cancer: a cohort study among people with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2009; 32: 1620–1625.
43. Xiong Y., Lu Q.J., Zhao J., Wu G.Y. Metformin inhibits growth of hepatocellular carcinoma cells by inducing apoptosis via mitochondrion-mediated pathway. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2012; 13: 3275–3279.
44. Martin M., Marais R. Metformin: a diabetes drug for cancer, or a cancer drug for diabetics? *J. Clin. Oncol.* 2012; 30: 2698–2700.
45. Melikian C., White T.J., Vanderplas A., Dezii C.M., Chang E. Adherence to oral antidiabetic therapy in a managed care organization: a comparison of monotherapy, combination therapy, and fixed-dose combination therapy. *Clin. Ther.* 2002; 24: 460–467.
46. Fujioka K., Brazg R.L., Raz I. i wsp. Efficacy, dose-response relationship and safety of once-daily extended-release metformin (Glucophage XR) in type 2 diabetic patients with inadequate glycaemic control despite prior treatment with diet and exercise: results from two double-blind, placebo-controlled studies. *Diabetes Obes. Metab.* 2005; 7: 28–39.
47. Fujioka K., Pans M., Joyal S. Glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus switched from twice-daily immediate release metformin to a once-daily extended-release formulation. *Clin. Ther.* 2003; 25: 515–529.